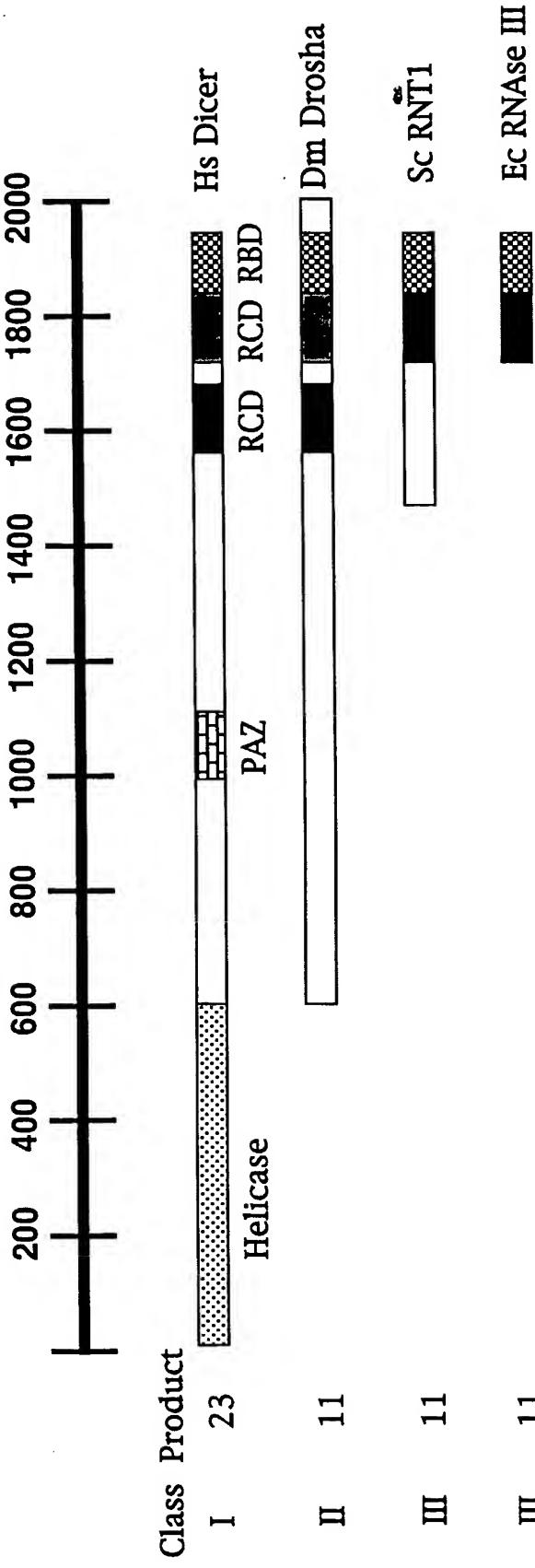


# RNase III class proteins

Figure 1



RCD - RNase III RNA cleavage domain

RBD - RNase III dsRNA binding domain

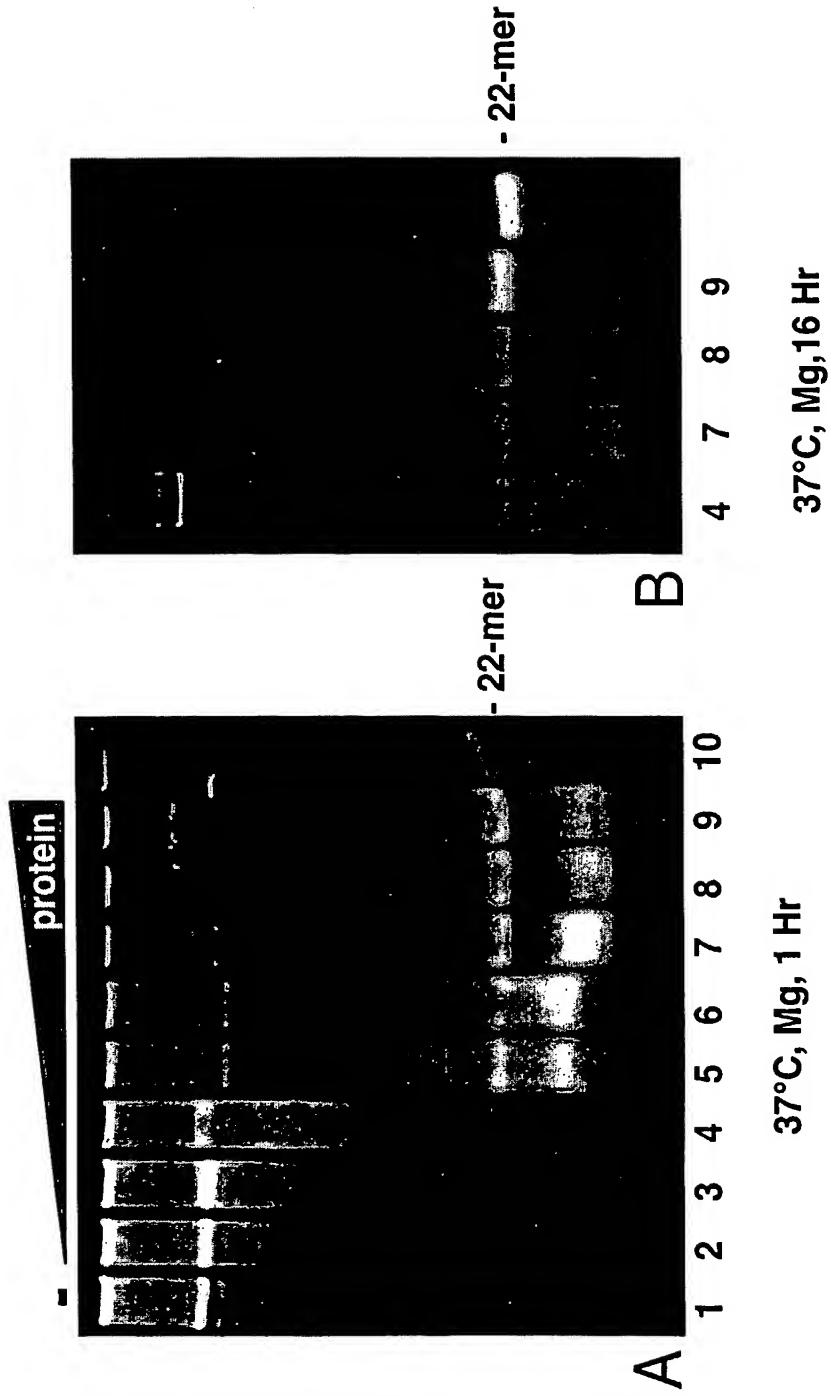
Structure, 9, p. 1225, (2001)

<i>Pasteurella multocida</i> (SEQ ID NO:9)	1	WTONLELRLORQIGYQFNQPAEKKQAAV. V. . . . .
<i>H. influenzae</i> (SEQ ID NO:10)	1	MNHLDRERKIGYRFNDIAKQAL. . . . .
<i>S. typhimurium</i> (SEQ ID NO:11)	1	MNPIVINRIOQKLGYTFNHOE. . . . .
<i>E. coli</i> (SEQ ID NO:12)	1	MNPIVINRIOQKLGYTFNHOE. . . . .
<i>V. cholerae</i> (SEQ ID NO:13)	1	MNPIVINRIOQKLGYTFKETE. . . . .
<i>P. aeruginosa</i> (SEQ ID NO:14)	1	MNPIVINRIOQKLGYTFKDRD. . . . .
<i>H. pylori</i> (SEQ ID NO:15)	1	MKNKRQSNQSPYVT. . . . .
<i>S. pyogenes</i> (SEQ ID NO:16)	1	MKQLEELTSFDIQFNDL. . . . .
<i>M. pneumoniae</i> (SEQ ID NO:17)	1	MSKHSHYKDKKKFYKKVEQFKE. . . . .
<i>B. subtilis</i> (SEQ ID NO:18)	1	MSKOKKSEIYNRFRKR. . . . .
<i>S. aureus</i> (SEQ ID NO:19)	1	MKMKKSSDFCLCNERKSQNSNFD. . . . .
<i>Bacillus burgdorferi</i> (SEQ ID NO:20)	1	MTP. PMNKTSKLGTYTFKDRD. . . . .
<i>M. leprae</i> (SEQ ID NO:21)	1	MVLA. . . . .
<i>Aquifex aeolicus</i> (SEQ ID NO:22)	1	MVLA. . . . .
<i>Rickettsia conorii</i> (SEQ ID NO:23)	1	MVLA. . . . .
<i>A. tumefaciens</i> (SEQ ID NO:24)	1	MVLA. . . . .
<i>S. cerevisiae</i> (SEQ ID NO:25)	171	MGMACQHALGPPVQGCQMSKTKPLSKATKWPPIQDIAVARYFIHKSTIKDKVYLSGSEMINAHNERLEFLGDSI. . . . .
<i>Pasteurella multocida</i> (SEQ ID NO:9)	1	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>H. influenzae</i> (SEQ ID NO:10)	49	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>S. typhimurium</i> (SEQ ID NO:11)	51	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>E. coli</i> (SEQ ID NO:12)	51	WTAATYHRFRVDEGDSRMDPLRGNTAA. . . . .
<i>V. cholerae</i> (SEQ ID NO:13)	50	WTAATYRRFFKVNNEGDSRMDPLRGNTAA. . . . .
<i>P. aeruginosa</i> (SEQ ID NO:14)	50	WTAATYRFFKVNNEGDSRMDPLRGNTAA. . . . .
<i>H. pylori</i> (SEQ ID NO:15)	64	WTAATYRFFKVNNEGDSRMDPLRGNTAA. . . . .
<i>S. pyogenes</i> (SEQ ID NO:16)	57	WTAATYRFFKVNNEGDSRMDPLRGNTAA. . . . .
<i>M. pneumoniae</i> (SEQ ID NO:17)	57	WTAATYRFFKVNNEGDSRMDPLRGNTAA. . . . .
<i>B. subtilis</i> (SEQ ID NO:18)	72	WTAATYRFFKVNNEGDSRMDPLRGNTAA. . . . .
<i>S. aureus</i> (SEQ ID NO:19)	69	WTAATYRFFKVNNEGDSRMDPLRGNTAA. . . . .
<i>Bacillus burgdorferi</i> (SEQ ID NO:20)	70	WTAATYRFFKVNNEGDSRMDPLRGNTAA. . . . .
<i>M. leprae</i> (SEQ ID NO:21)	54	WTAATYRFFKVNNEGDSRMDPLRGNTAA. . . . .
<i>Aquifex aeolicus</i> (SEQ ID NO:22)	50	WTAATYRFFKVNNEGDSRMDPLRGNTAA. . . . .
<i>Rickettsia conorii</i> (SEQ ID NO:23)	56	WTAATYRFFKVNNEGDSRMDPLRGNTAA. . . . .
<i>A. tumefaciens</i> (SEQ ID NO:24)	77	WTAATYRFFKVNNEGDSRMDPLRGNTAA. . . . .
<i>S. cerevisiae</i> (SEQ ID NO:25)	251	WTAATYRFFKVNNEGDSRMDPLRGNTAA. . . . .
<i>Pasteurella multocida</i> (SEQ ID NO:9)	1	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>H. influenzae</i> (SEQ ID NO:10)	49	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>S. typhimurium</i> (SEQ ID NO:11)	51	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>E. coli</i> (SEQ ID NO:12)	51	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>V. cholerae</i> (SEQ ID NO:13)	50	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>P. aeruginosa</i> (SEQ ID NO:14)	50	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>H. pylori</i> (SEQ ID NO:15)	64	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>S. pyogenes</i> (SEQ ID NO:16)	57	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>M. pneumoniae</i> (SEQ ID NO:17)	57	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>B. subtilis</i> (SEQ ID NO:18)	72	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>S. aureus</i> (SEQ ID NO:19)	69	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>Bacillus burgdorferi</i> (SEQ ID NO:20)	70	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>M. leprae</i> (SEQ ID NO:21)	54	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>Aquifex aeolicus</i> (SEQ ID NO:22)	50	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>Rickettsia conorii</i> (SEQ ID NO:23)	56	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>A. tumefaciens</i> (SEQ ID NO:24)	77	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>S. cerevisiae</i> (SEQ ID NO:25)	251	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>Pasteurella multocida</i> (SEQ ID NO:9)	1	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>H. influenzae</i> (SEQ ID NO:10)	49	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>S. typhimurium</i> (SEQ ID NO:11)	51	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>E. coli</i> (SEQ ID NO:12)	51	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>V. cholerae</i> (SEQ ID NO:13)	50	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>P. aeruginosa</i> (SEQ ID NO:14)	50	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>H. pylori</i> (SEQ ID NO:15)	64	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>S. pyogenes</i> (SEQ ID NO:16)	57	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>M. pneumoniae</i> (SEQ ID NO:17)	57	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>B. subtilis</i> (SEQ ID NO:18)	72	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>S. aureus</i> (SEQ ID NO:19)	69	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>Bacillus burgdorferi</i> (SEQ ID NO:20)	70	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>M. leprae</i> (SEQ ID NO:21)	54	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>Aquifex aeolicus</i> (SEQ ID NO:22)	50	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>Rickettsia conorii</i> (SEQ ID NO:23)	56	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>A. tumefaciens</i> (SEQ ID NO:24)	77	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>S. cerevisiae</i> (SEQ ID NO:25)	251	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>Pasteurella multocida</i> (SEQ ID NO:9)	1	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>H. influenzae</i> (SEQ ID NO:10)	49	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>S. typhimurium</i> (SEQ ID NO:11)	51	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>E. coli</i> (SEQ ID NO:12)	51	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>V. cholerae</i> (SEQ ID NO:13)	50	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>P. aeruginosa</i> (SEQ ID NO:14)	50	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>H. pylori</i> (SEQ ID NO:15)	64	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>S. pyogenes</i> (SEQ ID NO:16)	57	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>M. pneumoniae</i> (SEQ ID NO:17)	57	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>B. subtilis</i> (SEQ ID NO:18)	72	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>S. aureus</i> (SEQ ID NO:19)	69	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>Bacillus burgdorferi</i> (SEQ ID NO:20)	70	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>M. leprae</i> (SEQ ID NO:21)	54	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>Aquifex aeolicus</i> (SEQ ID NO:22)	50	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>Rickettsia conorii</i> (SEQ ID NO:23)	56	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>A. tumefaciens</i> (SEQ ID NO:24)	77	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>S. cerevisiae</i> (SEQ ID NO:25)	251	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>Pasteurella multocida</i> (SEQ ID NO:9)	1	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>H. influenzae</i> (SEQ ID NO:10)	49	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>S. typhimurium</i> (SEQ ID NO:11)	51	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>E. coli</i> (SEQ ID NO:12)	51	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>V. cholerae</i> (SEQ ID NO:13)	50	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>P. aeruginosa</i> (SEQ ID NO:14)	50	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>H. pylori</i> (SEQ ID NO:15)	64	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>S. pyogenes</i> (SEQ ID NO:16)	57	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>M. pneumoniae</i> (SEQ ID NO:17)	57	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>B. subtilis</i> (SEQ ID NO:18)	72	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>S. aureus</i> (SEQ ID NO:19)	69	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>Bacillus burgdorferi</i> (SEQ ID NO:20)	70	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>M. leprae</i> (SEQ ID NO:21)	54	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>Aquifex aeolicus</i> (SEQ ID NO:22)	50	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>Rickettsia conorii</i> (SEQ ID NO:23)	56	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>A. tumefaciens</i> (SEQ ID NO:24)	77	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .
<i>S. cerevisiae</i> (SEQ ID NO:25)	251	WTAATYHQFFKCNEGEISRMATLREPTAA. . . . .

Figure 2

# RNase Activity of E38A

Figure 3



# RNase Activity of E38A

Figure 4

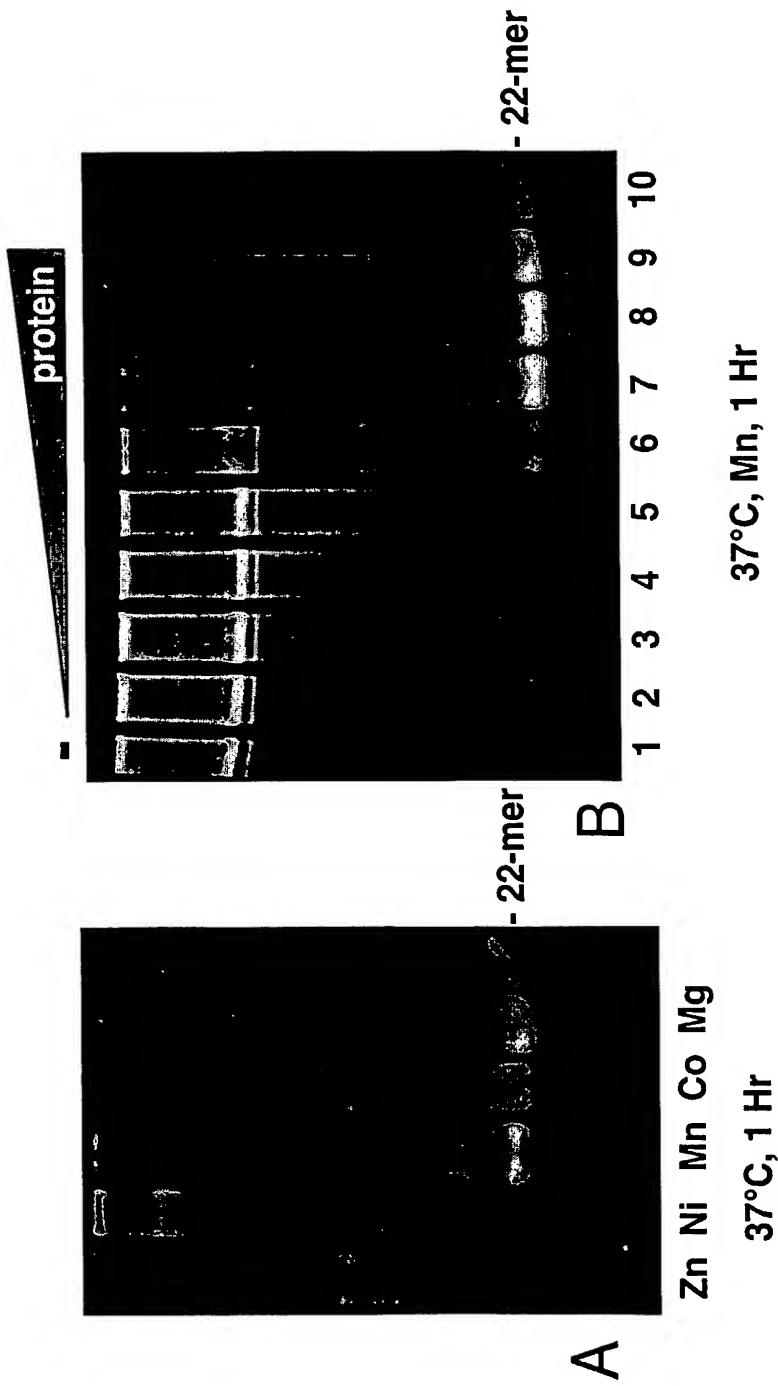
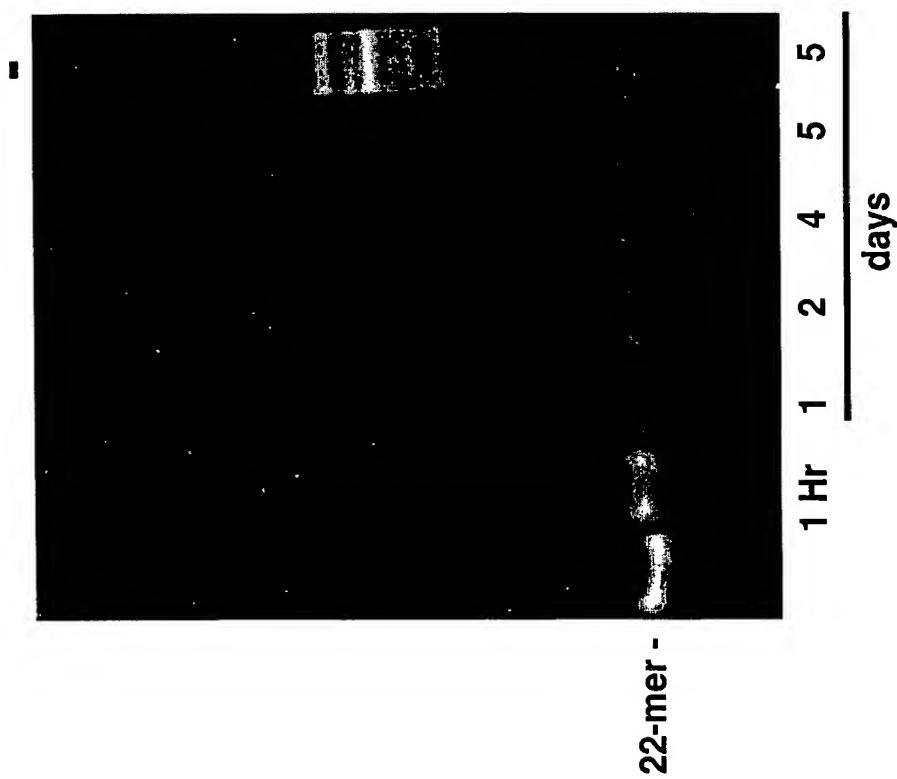


Figure 5

## RNase Activity of E38A



# RNase Activity of E38A

Figure 6

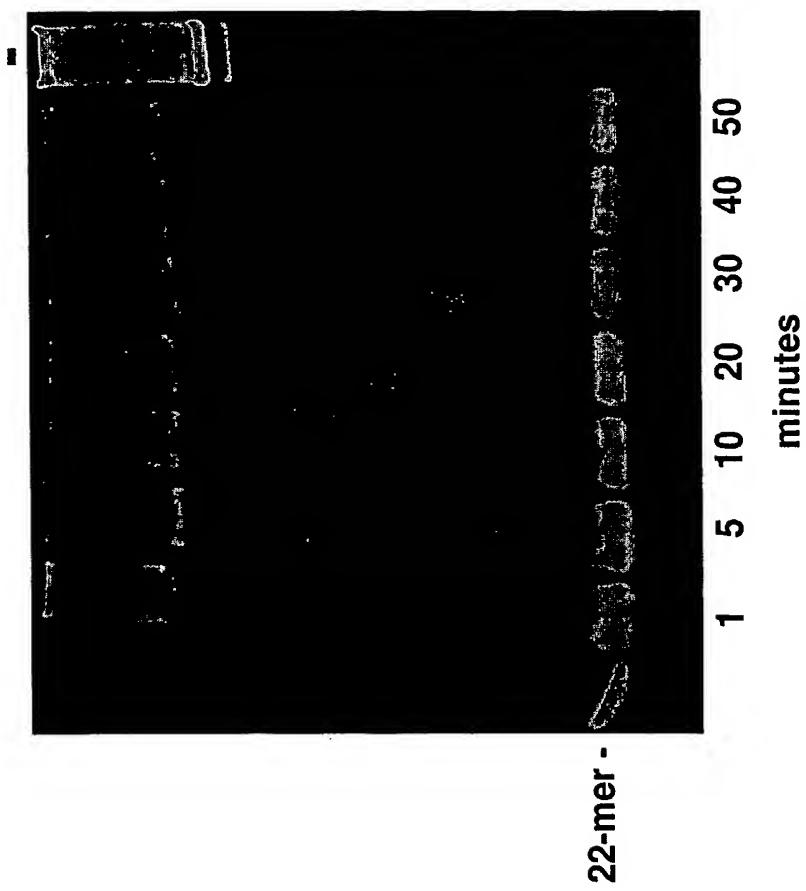
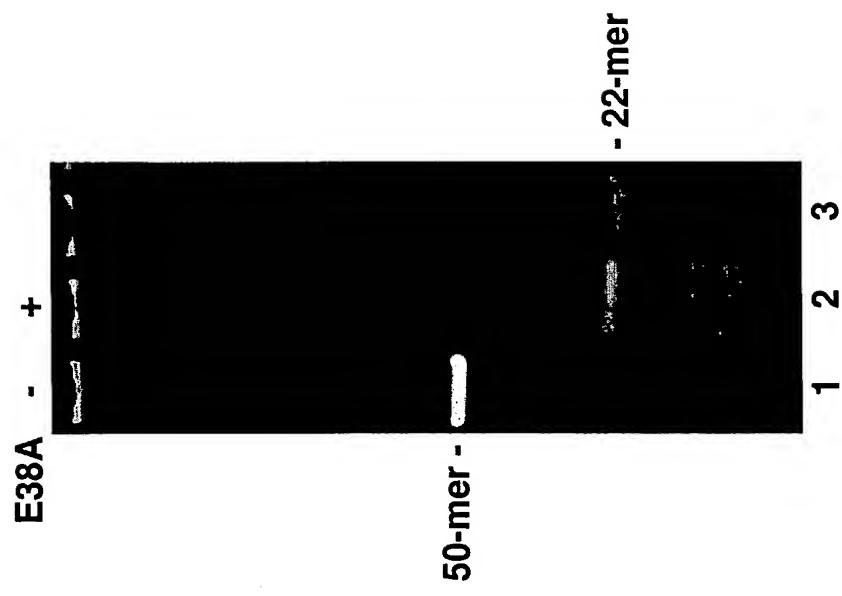


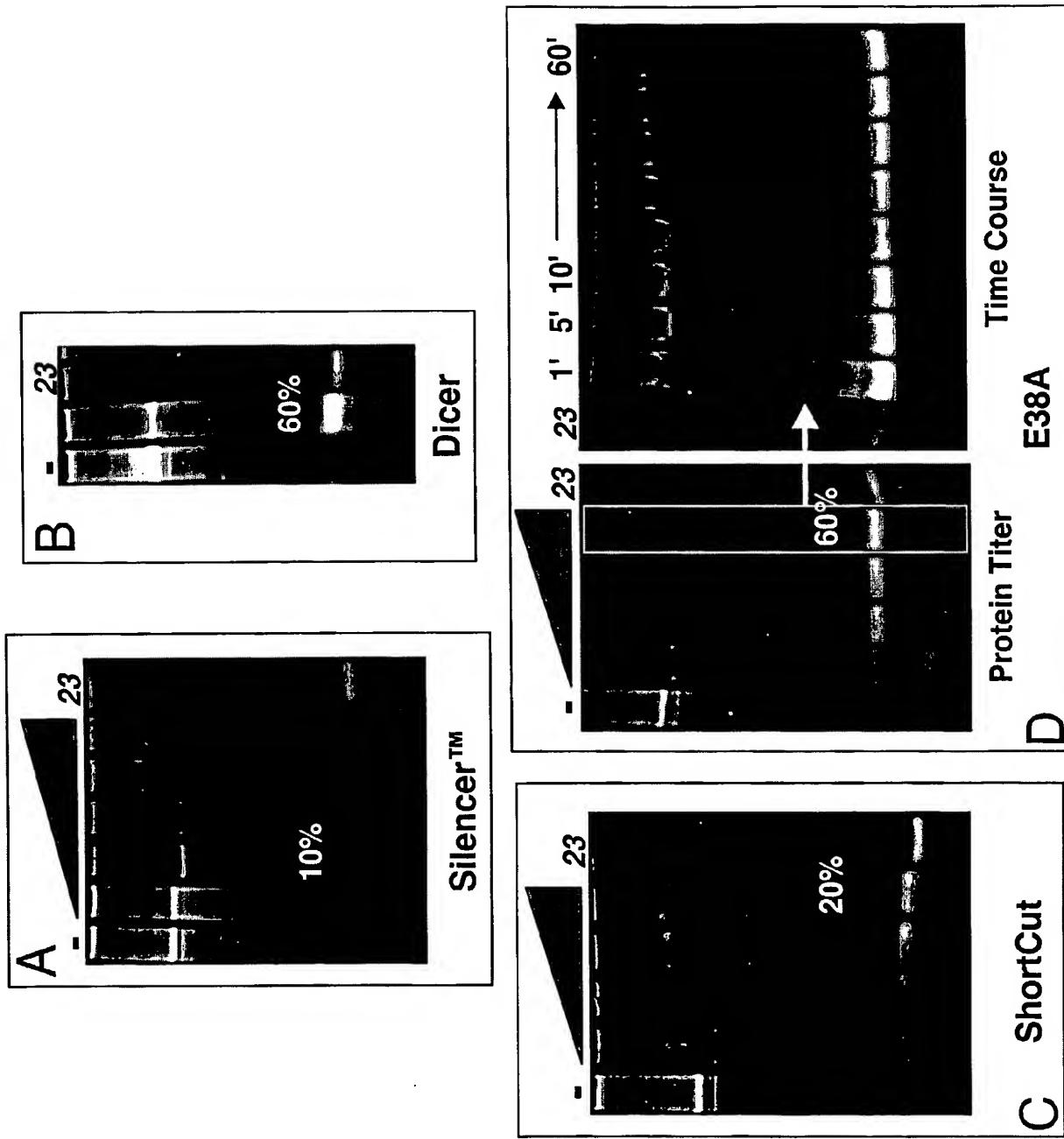
Figure 7

# RNAse Activity of E38A



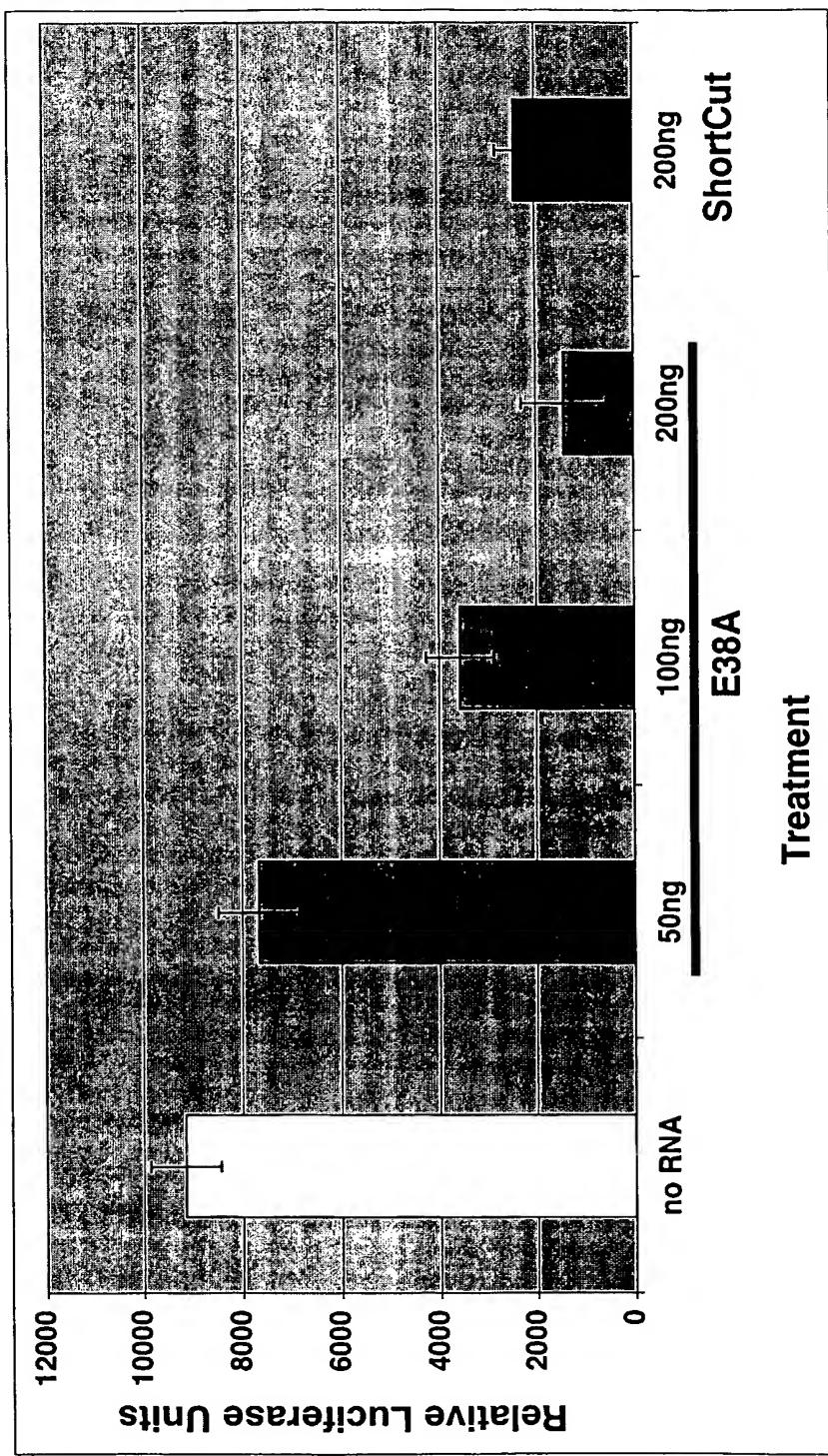
# Comparisons

Figure 8



# RNAi activity of E38A-cleaved dsRNA

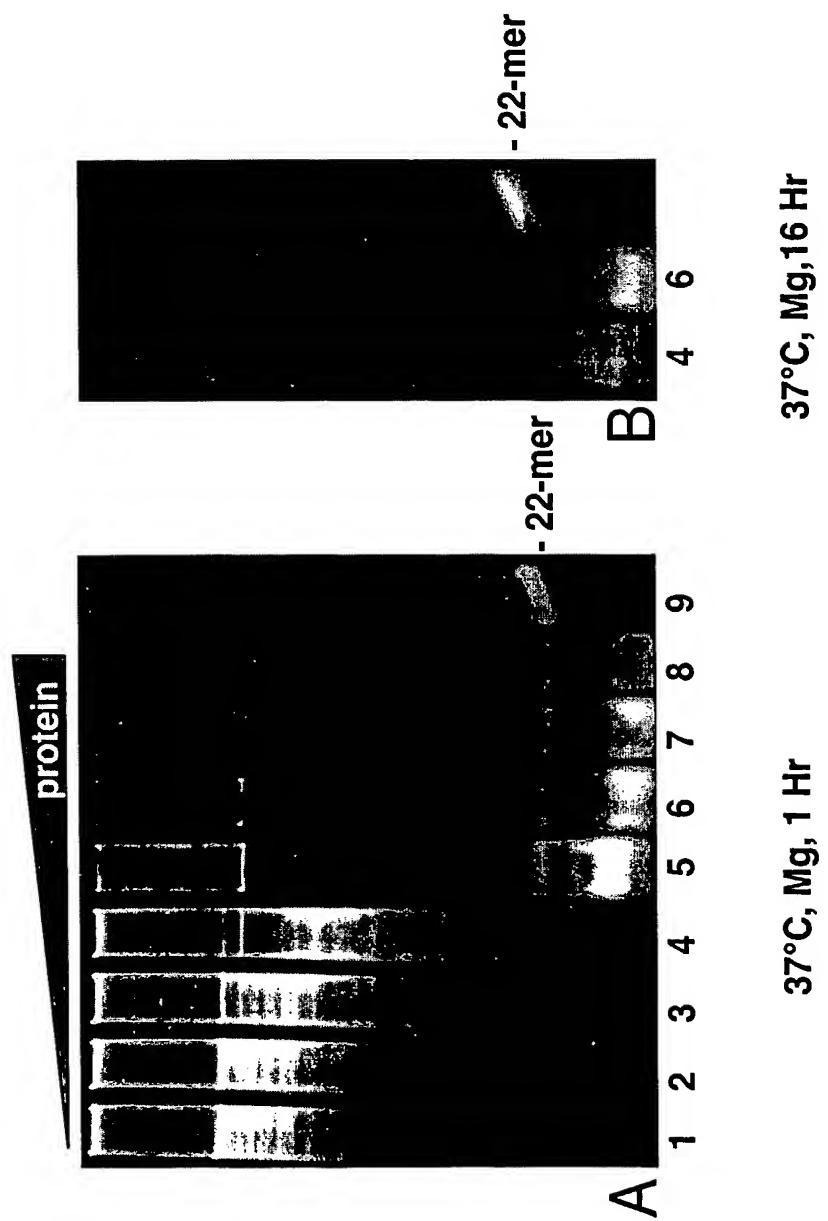
Figure 9



Luciferase activity in transfected NIH 3T3 cells

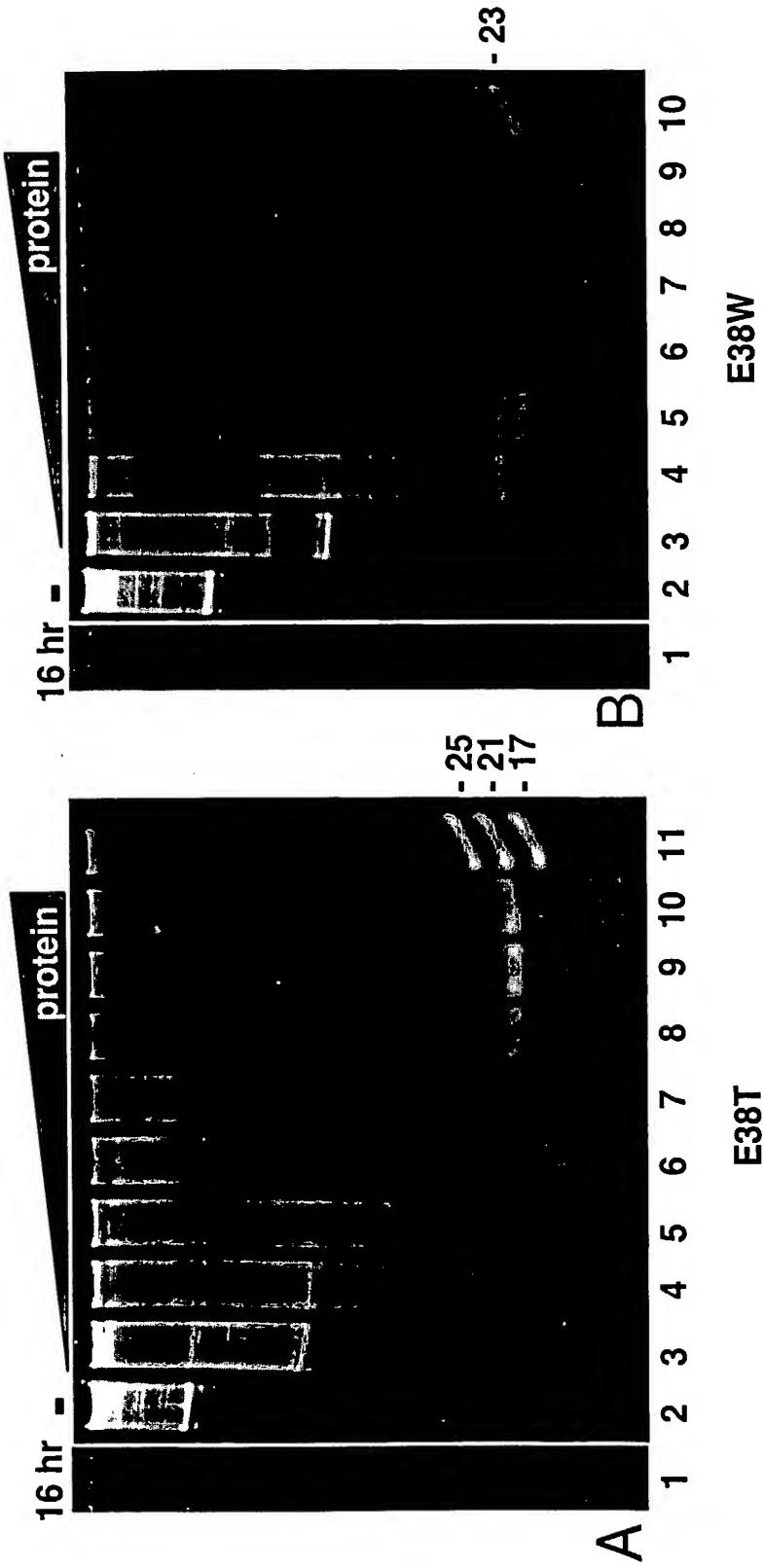
# RNase Activity of E65A

Figure 10



# RNase Activity of E38T & E38W

Figure 11



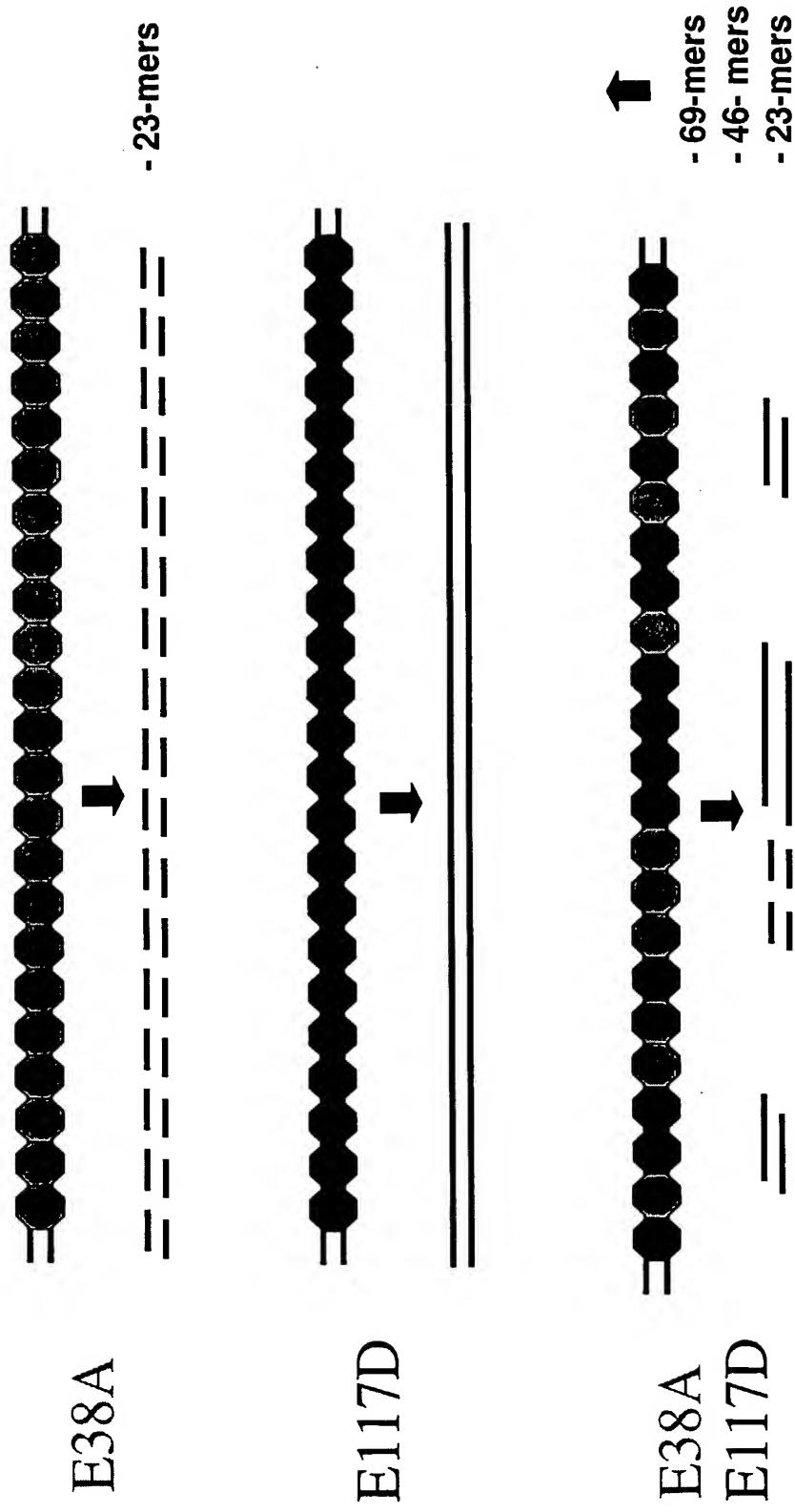
# *E. coli* RNase III Mutants

Figure 12

<i>Aquifex aeolicus</i>	<i>wt</i>	37	E	T	L	F	L	G	D	A	63	R	E	G	F	L	S	107	D	V	F	E	A	L	
<i>E. coli</i>	<i>wt</i>	38	E	R	L	E	F	L	G	D	S	64	D	E	G	D	M	S	114	D	T	V	E	A	L
E38D	<i>wt</i>	38	D	R	L	E	F	L	G	D	S	64	D	E	G	D	M	S	114	D	T	V	E	A	L
E38K	<i>wt</i>	38	K	R	L	E	F	L	G	D	S	64	D	E	G	D	M	S	114	D	T	V	E	A	L
E38Q	<i>wt</i>	38	Q	R	L	E	F	L	G	D	S	64	D	E	G	D	M	S	114	D	T	V	E	A	L
E38P	<i>wt</i>	38	P	R	L	E	F	L	G	D	S	64	D	E	G	D	M	S	114	D	T	V	E	A	L
E38V	<i>wt</i>	38	V	R	L	E	F	L	G	D	S	64	D	E	G	D	M	S	114	D	T	V	E	A	L
E38A	23	38	A	R	L	E	F	L	G	D	S	64	D	E	G	D	M	S	114	D	T	V	E	A	L
E38T	23	38	T	R	L	E	F	L	G	D	S	64	D	E	G	D	M	S	114	D	T	V	E	A	L
E38W	23	38	W	R	L	E	F	L	G	D	S	64	D	E	G	D	M	S	114	D	T	V	E	A	L
D45V	<i>wt</i>	38	E	R	L	E	F	L	G	V	S	64	D	E	G	D	M	S	114	D	T	V	E	A	L
D45A	<i>i</i>	38	E	R	L	E	F	L	G	A	S	64	D	E	G	D	M	S	114	D	T	V	E	A	L
E65P	<i>wt</i>	38	E	R	L	E	F	L	G	D	S	64	D	P	G	D	M	S	114	D	T	V	E	A	L
E65A	23	38	E	R	L	E	F	L	G	D	S	64	D	A	G	D	M	S	114	D	T	V	E	A	L
E117D	<i>i</i>	38	E	R	L	E	F	L	G	D	S	64	D	E	G	D	M	S	114	D	T	V	D	A	L
E38Q,E65P	<i>wt</i>	38	Q	R	L	E	F	L	G	D	S	64	D	P	G	D	M	S	114	D	T	V	E	A	L
E38A,E65A	<i>wt</i>	38	A	R	L	E	F	L	G	D	S	64	D	A	G	D	M	S	114	D	T	V	E	A	L

Figure 13

E117D, E38A mixtures produce multimers of  
23 bp product



# E117D, E38A mixtures produce multimers of 23 bp product

Figure 14

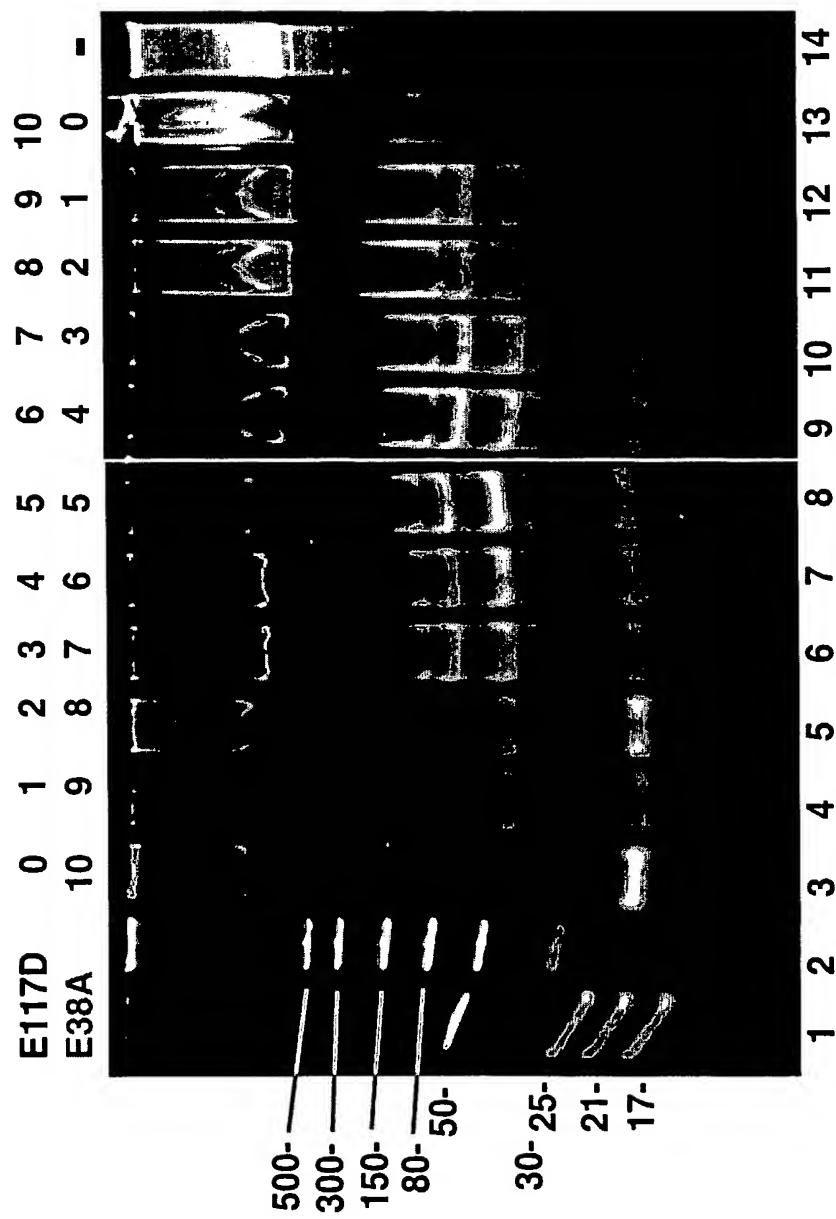


Figure 15

E117D, WT mixtures produce multimers of  
23 bp product

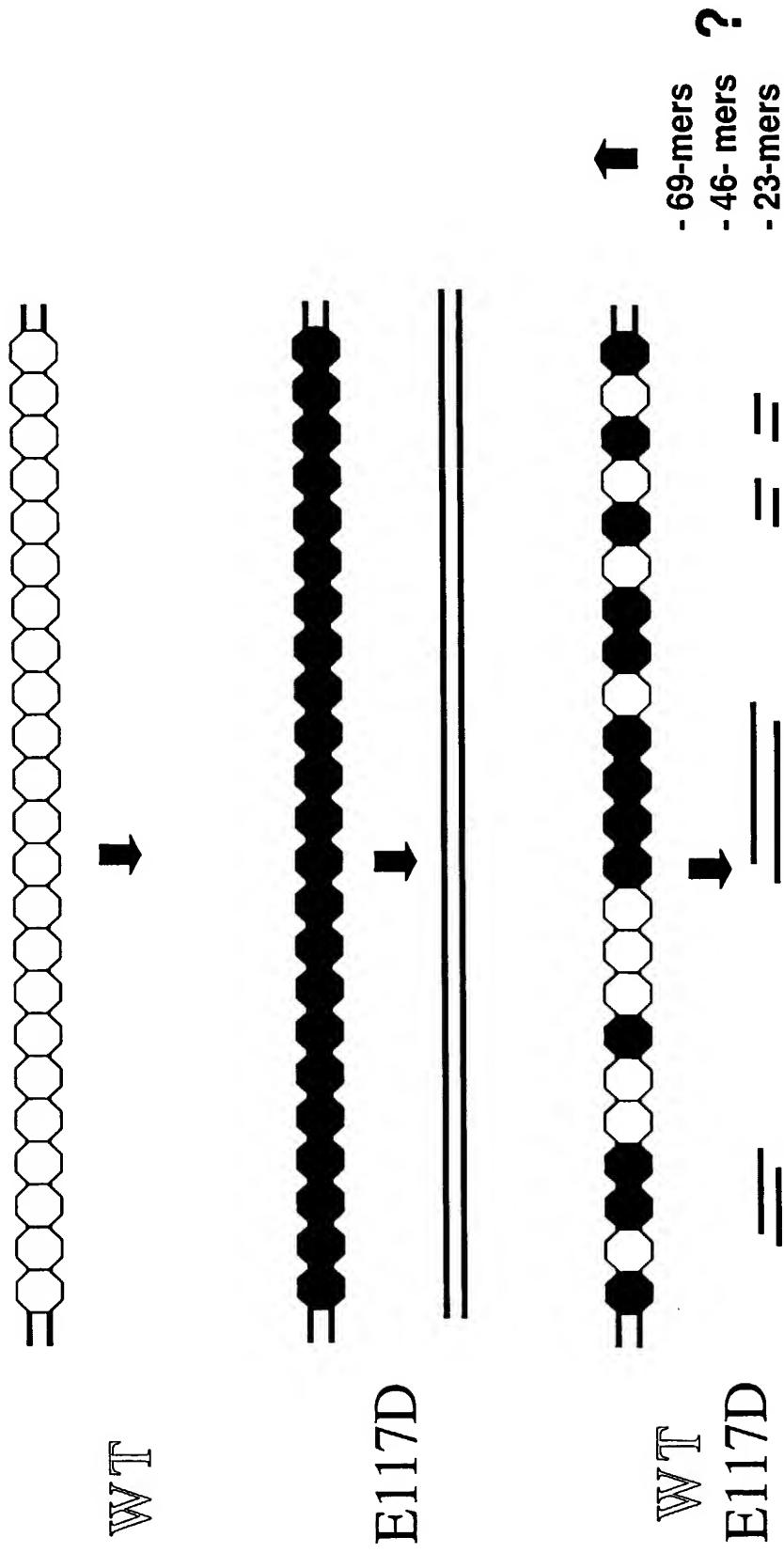
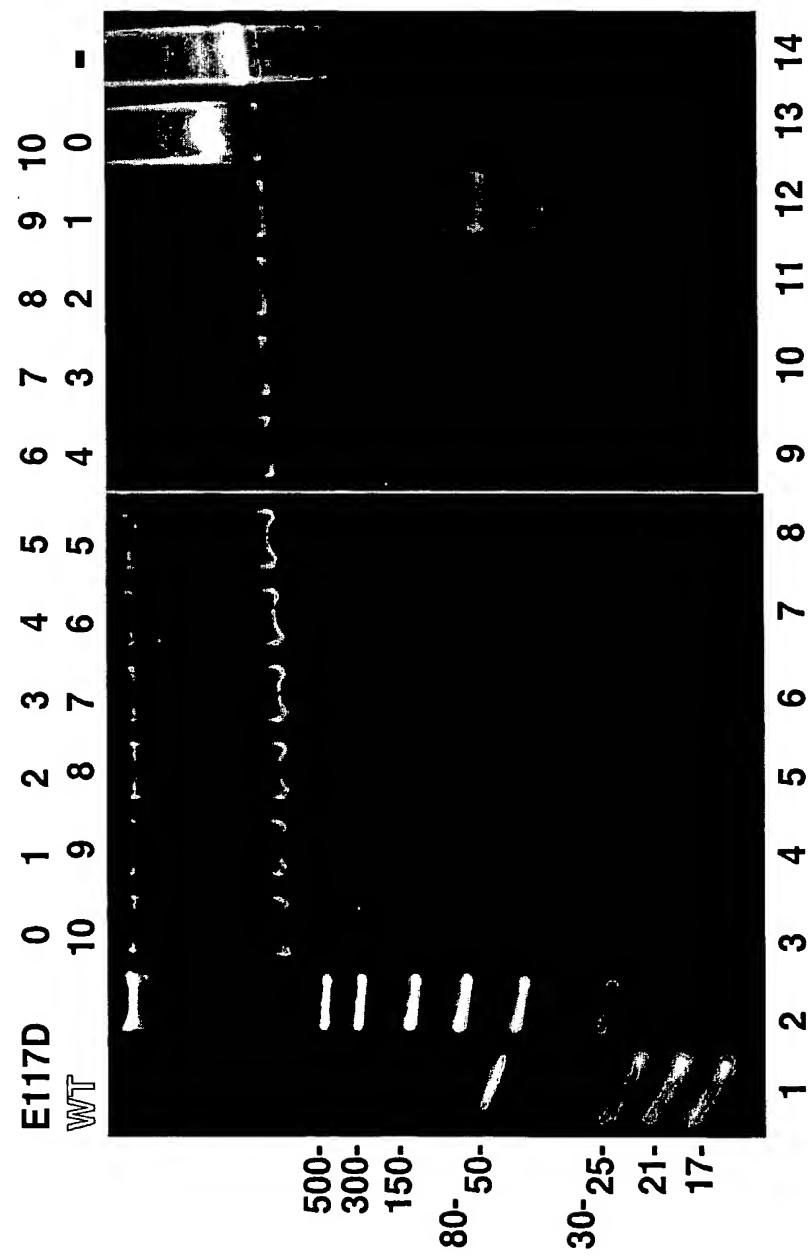


Figure 16

E117D, WT mixtures produce multimers of 23 bp product



siRNA evaluation tool (EXPERIMENTAL) v0.57 results - Thu Jan 13 15:59:54  
2005

**Query:** Homo sapiens tumor protein p53 (Li-Fraumeni syndrome)  
NM\_000546 (TP53), mRNA.  
**Query Length:** 2629 nt  
**Displayed Region:** 1 - 2608  
**Database Searched:** Homo\_sapiens -- NCBI :: hs.fna  
**Min Match Length:** 21 nt

Hits to the following DB sequences were filtered out of the results (user  
cutoff 1.0E-70):  
[gi|8400737|ref|NM\\_000546.2|](#) E-val:0.0

Current resolution is 4 base(s).

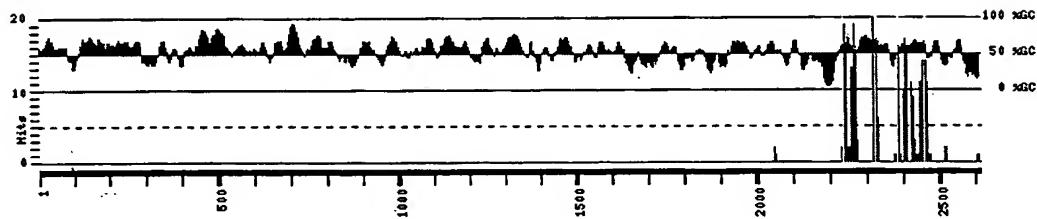


Figure 17